

2. 将来の選択的接種プログラムの費用対効果分析試算

現在、北欧の一部の国では集団BCG接種は中止し感染ハイリスク群への選択的接種プログラムへ移行している。そこで日本でのBCG選択的接種の試算として、20年後の疫学状況と出生コホート中10%の感染ハイリスク群が存在すると仮定しこのグループへの選択的接種を行った場合の費用対効果推定を行った。20年後では感染危険率は0.018%になると推定された。この場合BCG接種なしで100万人出生コホートの30年間累積発生患者は474名と推定された。ここで出生コホートの10%に感染ハイリスク群が存在すると仮定する。ここで感染ハイリスク群とは(a)家族や接触者による感染リスクが高い(b)結核高蔓延国への長期滞在(c)親が結核高蔓延国出生の移

民、等を想定し、一般群と比べ感染危険率が(i)5倍(ii)10倍の場合を設定した。BCG接種なしでは30年間累積発生患者数は(i)で661人(ii)で892人となった。これはほぼ10年後より患者発生が減少が起きていない疫学状況に相当すると考えられる。この高感染リスク群に対し選択的BCG接種プログラムを実施し接種カバー率が90%を達成した場合30年間累積発生患者数は(i)の場合489名で172名の予防、(ii)の場合517名で375名の予防と推定された。これより患者1人あたり予防に要する費用は(i)で2,324,014円、(ii)で1,064,926円となり、全員への集団接種プログラムに比べ(i)で約10倍弱、(ii)で約20倍強の費用対効果をあげることが可能である推定を得た。

表4、表5にそれぞれ(i)と(ii)の場合で接種カバー率別推定結果を示した。

表4 BCG選択的接種カバー率別費用対効果
ハイリスク群感染危険率が一般に比べ5倍
ハイリスク群人口割合10%
予防効果50%、効果持続期間15年

接種カバー率 (%)	30年累積発生患者数	予防1人あたり費用
接種なし	661	
80	508	2,616,609
90	489	2,324,014
95	479	2,200,253

表5 BCG選択的接種カバー率別費用対効果
 ハイリスク群感染危険率が一般に比べ10倍
 ハイリスク群人口割合10%
 予防効果50%、効果持続期間15年

接種カバー率 (%)	30年累積発生患者数	予防1人あたり費用
接種なし	892	
80	559	1,198,987
90	517	1,064,926
95	495	1,008,220

D. 考察および結論

BCG接種による結核発病予防プログラムはその費用対効果と感染危険率の減少が逆関係にあるジレンマを有している。Rahman¹⁰らは旧接種プログラムであるが1996年での日本におけるBCG接種による結核発病予防の費用対効果分析を行い、BCG発病予防効果60%で結核発病予防1人あたり予防に要する費用を9,388,280円と算出している(1996年は感染危険率0.05%の水準に相当する。またBCG費用が接種前のツベルクリン反応検査とあわせ1,700円での計算)。その後、感染危険率の減少により本研究で示したように同費用は2千万円を超えるとみられ、さらに感染危険率減少とともに費用対効果の悪化が予想される。乳幼児期の結核発症は重篤なケースにいたることが多く、費用面でのみBCG接種プログラムを議論することは適当でないことはもちろんである。

一方、ノルウェーやスウェーデンな移民の子どもなどへの感染ハイリスク群を対象としたBCG接種プログラムへと移行している。本研究においても将来において仮に

結核感染ハイリスク群が生じるようであれば、この群に対し選択的接種プログラムを行うことで費用対効果面でも高い効果が示した。将来においては総合的な面からBCG接種プログラムの検討が必要となると考えられる。

成人への選択的BCG接種については、Nettleman¹¹が米国の状況下であるがシェルターのホームレス者に対してBCG接種を行う場合の費用対効果を推定し、BCG接種による発病予防効果が40%以上でないと費用対効果の面で有効でないことを示しているが、成人へのBCG接種による発病予防効果の積極的な証明は示されておらず、この面への研究は今後の課題となる。また、結核発病予防新ワクチンの費用対効果分析も始まっており(Bishaiら¹²、Zivら¹³)、新ワクチンでの費用対効果分析も課題である。

参考文献

- 1 Colditz GA, Brewer TF, Berkey CS, et al. Efficacy of BCG vaccine in the prevention of tuberculosis.

- Meta-analysis of the published literature. *JAMA* 1994; 271: 698-702
- 2 Murray CJL, Styblo K, Rouillon A. Tuberculosis in developing countries: burden, intervention and cost. *Bull Int Union Against Tuberc Lung Dis* 1990; 65: 6-24
 - 3 Trunz BB, Fine PEM, Dye C. Effect of BCG vaccination on childhood tuberculosis meningitis and miliary tuberculosis worldwide: a meta-analysis and assessment of cost-effectiveness. *Lancet* 2006; 367: 1173-1180
 - 4 Waaler HT, Piot MA. The use of an epidemiological model for estimating the effectiveness of tuberculosis control measures. *Bull World Health Organ* 1969; 41: 75-93
 - 5 Styblo K, Meijer J. Impact of BCG vaccination programmes in children and adults on the tuberculosis problem. *Tubercle* 1976; 57: 17-43
 - 6 Blower SM, Small PM, Hopewell PC. Control strategies for tuberculosis epidemics: New models for old problems. *Science* 1996; 273: 497-500
 - 7 Vynnycky E, Fine PEM. The natural history of tuberculosis: the implications of age-dependent risks of disease and the role of reinfection. *Epidemiol Infect* 1997; 119: 183-201
 - 8 森亨. 沖縄における結核の疫学分析. (1)Styblo のモデルよりみた感染の様相. *結核* 1971; 46: 357-364
 - 9 森亨. 結核感染をめぐる諸問題. *結核* 1988; 63: 39-48
 - 10 Rahman M, Sekimoto M, Takamatsu I, et al. Economic evaluation of universal BCG vaccination of Japanese infants. *Int J Epidemiology* 2001; 30: 380-385
 - 11 Nettleman MD. Use of BCG vaccination in shelters for the homeless. *Chest* 1993; 103: 1087-1090
 - 12 Bishai DM, Mercer D. Modeling the economic benefits of better TB vaccines. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001; 5: 984-993
 - 13 Ziv E, Daley CL, Blower SM. Potential public health impact of new tuberculosis vaccines. *Emerging Infectious Disease* 2004; 10: 1529-1535
- E. 健康危険情報
なし
- G. 研究発表
1. 論文発表
 1. Uchimura K, Nagamine M, et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in an urban setting in Japan and its association with age, sex and homelessness *Respirology*, 2006. Nov;11 Suppl 5
 2. 学会発表
 1. Uchimura K, : Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in an urban setting in Japan and its association with age, sex and

homelessness. 11th Congress of
the Asian Pacific Society of
Respirology, 2006 Nov. Kyoto

2. 内村和広：東京近県の年齢階級別結核罹患率の年次推移からみた結核疫学像の分析 日本結核病学会、2006年5月、仙台
 3. 内村和広：BCG接種の費用対効果分析－新制度下での分析と選択的接種の試算－ 日本公衆衛生学会 2006年10月、富山
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

BCG接種に関する費用対効果の分析

（南アフリカ共和国における無作為抽出BCG接種（皮内及び経皮）臨床試験の早期成績）

分担研究者 矢野 郁也 日本BCG中央研究所

研究要旨

BCGに代わる新規抗結核ワクチンが期待される中で、現在なお途上国を中心に、BCG生菌ワクチンが汎用されているが、その接種法については経皮または皮内接種の量方法が用いられており、効果・副作用及び経皮の面で議論がある。今回、南アフリカ共和国ケープタウン大学が中心となり、BCG-Tokyo172株ワクチンの経皮及び皮内接種による抗結核効果（発病防止）と副作用を11880名の幼児について無作為抽出により調査したところ、両接種法で効果・副作用両有意差は認められず、IFN- γ 産生をはじめとする感染防御免疫性に有意差がないことが判った。

A. 研究目的

新しい抗結核ワクチンの開発が期待されるなかで、80年以上にわたって世界的に広く用いられているBCGワクチンは、結核発病率の低下効果と副作用に亜株間での差があるものの使い易いワクチンとして知られる。BCGワクチンの経費対効果を明らかにする目的で、BCG Tokyo172ワクチンを生下後皮内又は経皮投与した1100名以上の幼児の結核発病率、副作用及び死亡率を比較した。

B. 研究方法

Phase4無作為抽出でケープタウン市近郊在住の計11677名の幼児に対して2001年3月から2004年8月までの間に生下後24時間以内にBCGワクチンを接種し、2年間にわたって経過を観察した。サーベイランスは全ての副作用、死亡、入院、コホート

調査による結核暴露例について検索し、疑わしい場合、ツ反応、X線像及び臨牀的、放射線医学的検査、HIV抗体価、胃液及び喀痰からの結核菌培養及び分子生物学的試験による結核菌又は非結核性抗酸菌又はBCG菌による発病者を除外して行った。

C. 研究結果

臨床試験の一次効果として2年間の結核発病率と二次分析結果として結核及びその他のあらゆる副作用と結核死を含めて評価した。その結果を将来のBCGワクチン接種プログラムに反映させたいと考える。

	ワクチン接種 種数	TB	死亡	ケロイド形 成	リンパ節 炎	病理変化
経皮	5905	375	102	6	3	1
皮内	5975	361	85	10	2	0

問題点

- ・臨床的背景の記載が不十分であった。
- ・HIV感染者が30%以上にのぼった。
- ・MAC感染者が多数にのぼった。

以上の問題点は今後の結核ワクチン臨床試験において十分な注意を払う必要がある。

D. 研究の結論

BCGワクチンの接種効果については、上記のデータによると経皮、皮内接種で効果に差は認められない、又安全性については両者に幼児において差は認められない。

国際的には、いずれの投与方法でも問題はないが、各国別のワクチンプログラムは、経費と器具の使い易さ、技術の研修と信頼性、ワクチン接種要員の得やすさ等々の面から選択の対象となるだろう。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Watanabe Y, Watari E, Matsunaga I, Hiromatsu K, Dascher CC, Kawashima T, Norose Y, Shimizu K, Takahashi H, Yano I, Sugita M. BCG vaccine elicits both T-cell mediated and humoral immune responses directed against

mycobacterial lipid components. *Vaccine*. 24(29-30):5700-5707, 2006

2. Takimoto H, Maruyama H, Shimada KI, Yakabe R, Yano I, Kumazawa Y. Interferon-gamma independent formation of pulmonary granuloma in mice by injections with trehalose dimycolate (cord factor), lipoarabinomannan and phosphatidylinositol mannosides isolated from *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical and Experimental Immunology*. 144(1): 134-141, 2006
3. Okamoto Y, Fujita Y, Naka T, Hirai M, Tomiyasu I, Yano I. Mycobacterial sulfolipid shows a virulence by inhibiting cord factor induced granuloma formation and TNF-alpha release. *Microbial Pathogenesis*. 40(6):245-253, 2006.
4. Ozeki Y, Tsutsui H, Kawada N, Suzuki H, Kataoka M, Kodama T,

- Yano I, Kaneda K, Kobayashi K.
Macrophage scavenger receptor
down-regulates mycobacterial
cord factor-induced
proinflammatory cytokine
production by alveolar and
hepatic macrophages.
Microbial Pathogenesis. 40(4):171
-176, 2006.
5. Honda I, Seki M, Ikeda N,
Yamamoto S, Yano I, Koyama A,
Toida I. Identification of two
subpopulations of *Bacillus*
Calmette-Guerin (BCG) Tokyo172
substrain with different RD16
regions.
Vaccine. 24(23):4969-4974, 2006.
6. Miyamoto Y, Mukai T, Nakata N,
Maeda Y, Kai M, Naka T, Yano I,
Makino M. Identification and
characterization of the genes
involved in glycosylation
pathways of mycobacterial
glycopeptidolipid biosynthesis.
Journal of Bacteriology. 188(1):86
-95, 2006.
7. Shimada K, Takimoto H, Yano I,
Kumazawa Y. Involvement of
mannose receptor in
glycopeptidolipid-mediated
inhibition of phagosome-
lysosome fusion.
Microbiology and Immunology.
50(3):243-251, 2006.

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

有用な結核対策に関する研究（BCG及び結核感染特異的診断に関する費用対効果分析等）

分担研究者 小倉 剛 結核予防会大阪府支部・支部長

研究要旨

大阪府下10市のツ反・BCG接種は、自治体により半日出動か1日出動体制かで行われたが、いずれの体制でも1回出動あたりの実施数には大きな差がなく、BCG接種1件あたりの費用にも大差がなかった。このことから実施体制の効率化により費用を節減しようと考えられた。（各市間の経費約3倍の差）

A. 研究目的

- (1) BCG 接種事業における費用対効果を検証するため、具体的かつ実践的情報を事業現場から獲得する。
- (2) 一般日常診療において確定診断が困難な例が少なくない結核性胸膜炎特に特発性タイプについて、一般の全血法に加え、胸水を用いて Quantiferon-2G 検査 (QFT) を行いその診断的価値を検証する。

1ml の培養液を加えて懸濁液とし、全血法に準じて QFT を行う。

C. 研究成果

- (1) 府下 10 市での平成 16 年(PPD 反応検査後 BCG 接種)と 17 年 (BCG 直接接種) の BCG 接種件数は、それぞれ 17,182 人、15,162 人で、17 年度と 18 年度については 17 年 4 月から 18 年 1 月までと 18 年 4 月から 19 年 1 月までの同期の実績を比較すると、それぞれ 12,694 人と 12,577 人であった。1 件当りの費用については、それぞれ 3,931 円、4,347 円、4,563 円（平成 18 年 4 月から 19 年 1 月まで）と、むしろ年々上昇傾向が見られた。10 市毎に年度間比較をしても、9 市で上昇が見られた。しかも各市間の 1 件当り経費には最高で 2・8 倍の差

B. 研究方法

- (1) 大阪府下 10 市で当支部が行っている BCG 接種事業に要した費用や実績について、BCG 直接接種導入前後で 3 年間にわたり各市毎に調査、比較する。
- (2) 結核を含む種々の疾患に伴う胸水貯留症例に対し、研究の説明を行い同意を得たうえで、採取した胸水 50ml の遠心沈査に

がみられたが、各市の人口規模と関連性が見られなかった。

- (2) 結核性胸膜炎を含む 14 例の全血と胸水 (1/50 遠沈濃縮) で QFT をした結果、結核性 (6 例) では全血陽性が 4 例、うち 2 例は両抗原に陽性であった。胸水陽性例で全て両抗原に反応し、うち 4 例は強陽性であった。肺癌、中皮種を含む非結核性例 (8 例) では、全血陽性が 1 例で両抗原に反応陽性例は無く、胸水陽性は 2 例で両抗原に反応陽性例は見られなかった (表 1)。

D. 考察

- (1) 大阪府下 10 市における BCG 集団接種の実績と費用を調査したところ、年々 1 件当りの費用が増加したが、各市間で著明な格差が見られた。その原因としては、各市の人口とは関連が見られないことから、接種事業の実践効率が影響している可能性が考えられた。今後、接種開催頻度や場所、広報など接種事業の実態についてさらに詳しく調査し、各市間で大きな費用格差が生じている原因を明らかにすることによって結果的に費用対効果を改善しうる可能性がある。また、3 年間の新生児数や小児結核の発生を調査し、結核予防に対する費用対効果についてさらに具体的な検証を行う必要がある。
- (2) 14 例の胸水の QFT 結果から、簡便で安全な方法により結核性、

特に特発性型の診断制度を向上させ得る可能性を明らかにした。今後近隣多施設と協力して短期間で多数の胸水症例で QFT を行い、診断的有用性とくに費用と苦痛を伴う観血的診断に対する有用性を明確にする必要がある。

E. 結論

- (1) BCG 集団接種事業の効率化を図ることにより費用対効果を改善しうる可能性を明らかにした。
- (2) 結核性胸膜炎の診断に、胸水による QFT が役立つ可能性が示唆された。

F. 健康被害情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1. QuantiFERON検討患者データ

症例	胸水				血液			診断
	Q:ESAT6	Q:CFP10	細胞分類	ADA	Q:ESAT6	Q:CFP10	TBGL	
#1	(-)	(-)	細胞ごく少数	279	(+)	(-)	3.3	TB(喀痰+,胸水+)
#2	(2+)	(2+)	リンパ球97%	124	(±)	(±)	6.2	TB(喀痰+,胸水-)
#3	(+)	(+)	リンパ球96%	59	(-)	(-)	1.7	TB(喀痰-,胸水-)
#4	(2+)	(2+)	リンパ球87%	86	(-)	(+)	0.3	TB(喀痰-,胸水+)
#5	(+)	(2+)	リンパ球87%	78	(+)	(+)	0.6	TB(喀痰+,胸水-)
#6	(2+)	(2+)	リンパ球99%	96.4	(2+)	(2+)	4.5	TB(喀痰+,胸水-)
#7	(-)	(-)	リンパ球52%	ND	(-)	(-)	2.2	LC
#8	(-)	(-)	リンパ球66%	19	(-)	(±)	1.1	中皮腫
#9	(-)	(-)	リンパ球57%	ND	(-)	(-)	1.1	LC
#10	(*)	(*)	リンパ球65%	5	(+)	(±)	0.5	心不全
#11	(*)	(*)	リンパ球39%	9	(±)	(±)	1.3	肝癌
#12	(+)	(-)	リンパ球68%	24	(±)	(-)	ND	LC
#13	(*)	(*)	リンパ球22%	105	(-)	(-)	0.7	中皮腫
#14	(±)	(+)	リンパ球99%	22	(-)	(-)	0.1	脾臓悪性リンパ腫(Bcell)

* 判定不可

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

小児結核感染診断におけるQuantiFERON®TB-2Gの有用性の検討

分担研究者 宮野前健 国立病院機構南京都病院 副院長（小児科）
研究協力者 徳永 修 小児科医長

研究要旨

小児に於ける結核感染診断をQuantiFERON TB-2G（以下QFTと略す）を用いその有用性について検討した。結核発症6症例に於いて、ツ反のアネルギーを示した喉頭結核を伴う重症肺結核患児をのぞく5症例はQFT陽性（83%、1例判定保留を含む）であった。接触者検診に於いて感染リスクが高いと判断したグループ（発症者と同居など濃厚接触歴、喀痰塗沫陽性の多量排菌、長期咳嗽に曝される）は38%（8/21症例）が陽性であった。一方感染危険度の低いグループは全例(9例)QFT陰性であった。成人と同様結核発症例に於いてはQFT陽性率が高いため感染診断には有用である。この事より接触者検診でのQFT陽性小児例にではCT画像検査等で発症の有無を厳密に評価する必要があり、発症が否定できる症例は化学予防適応の判断基準になり得ると考える。塗沫・培養陰性が多い小児に於ける結核感染診断や接触者検診でのQFTの有用性は高い。しかしQFT陰性例に関しては、特に低年齢児に於いて感染リスク評価、BCG接種歴、ツ反強陽性等を総合的に考慮した予防内服の適応判断と定期的な検診継続が必要である。

A. 研究目的

QuantiFERON TB-2G、以下QFTはBCG菌や多くの非結核性抗酸菌に含まれない2種の結核菌特異蛋白を全血と共に培養し、effector T cellより遊離するINF- γ を測定することにより結核感染を体外診断する検査法である。成人結核症例を対象とした種々の検討においてQFTの高い有用性が報告され、米国CDC及び日本結核病学会のQFT使用ガイドラインにおいても、ツベルクリン反応に代わる結核感染診断法としてその使用が推奨されている。しかし、小児例における本検査の妥当性及び判定基準については未だ十分な検討がされておらず、それぞれのガイドラインにお

いても今後の検討課題とされている。今回、我々は当院における小児結核関連症例でQFT検査を合わせて実施し、その測定結果と各症例背景に関して検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

検討対象は2005年8月以降当院で診療を行った小児結核症例6例のべ14検体、接触者検診例30例のべ54検体。接触者検診例は感染危険度により2群に分けて検討を行った。発症者と同居、多量排菌、咳嗽期間が長い等で感染危険度が高いと判断したグループ（濃厚接触者群）は21症例(42検体)、及び感染危険度が低いと判断した9症

例(11検体)であった。当院で採決後2時間以内に全血と結核菌特異抗原であるESAT-6, CFP-10、さらに陰性及び陽性コントロールとの培養を実施し上清は20時間(±2時間)で回収してINF- γ 測定を行った(結核研究所 原田登之先生)。判定は日本結核病学会QFT使用指針に従って行なった。

C. 研究結果

新規発症例2例、治療中症例2例、治療終了後症例2例計6例について測定を行った。6例中5例が陽性或いは判定保留であった。しかし、発症時ツ反がanergyであった塗沫陽性重症肺結核学童例では治療開始8ヶ月後より繰り返しQFTを測定したが、ツ反陽転を確認した後も一貫してQFTは陰性で経過した。接触者検診例においては塗沫陽性患者と濃厚な接触歴を有する感染危険度が高いと判断した21例のうち8例

(38%)でQFT陽性または判定保留を認め、そのうち1例は画像検索にて肺結核発症が確認された。ツ反発赤径20mm未満の1例でQFT陽性を認め、逆に30mm以上の8例中4例がQFT陰性であった。QFT陰性であった3例に対しても感染源への暴露状況やBCG接種歴などを勘案して化学予防を実施した。この内1例は母親の多量排菌肺結核が判明したBCG未接種乳児例は、母親の発症判明直後のツ反、QFTは共に陰性であったが、化学予防を実施しながら慎重な経過観察を開始、1ヶ月後感染源INH耐性が判明した為RFPへ変更した上で予防を継続した。これまでの経過では発症を示唆する画像所見は認めていない。しかし予防終了時まで繰り返し実施したQFTは陰性または判定不可であったが、予防終了時のツ反では陽転が確認された。感染危険度の低い接触者検診例9例はすべてQFT陰性であ

った。

D. 考察

QFTは成人の結核感染の特異度・感度とも高く接触者検診に於ける感染者の特定や予防内服適応判断の基準になりつつある。小児に於いて特に5歳未満での

QFTの有用性(特異度・感度)については検討が十分なされていない。日本では小児の結核発症症例数は年間120名から150名を推移しておりQFTを用いた症例の蓄積がほとんど無いのが実情で、接触者検診に於けるQFTの検討症例も少ない。また成人に用いられているカットオフ値がそのまま当てはまるか否かもゴールデンスタンダードが無く症例の蓄積が今後の検討課題である。今回我々の行った検討症例数は少ないが、成人と同様結核発症症例に於けるQFT陽性率は高い結果であった。小児に於いては肺結核症例の塗沫陽性例は少なく画像診断が根拠となる事が多い事を考慮すればQFTの有用性は成人と同様に高いと考えられる。一方結核の潜伏感染(Latent Infection)の診断に於いて今回の検討では濃厚接触で感染リスクの高いグループに於けるQFT陽性率は約4割であり化学予防実施の根拠となると考える。しかしBCG未接種乳児例においてQFT陰性のままツ反が陽転した症例があった。つまり生体反応であるツ反が試験管内でリンパ球の特異反応を見るQFTより感染診断に於ける感度が高い可能性が示唆された。一方ツ反強度とQFT陽性率は小児に於いても相関がありQFT陰性でツ反強陽性を示す症例に於いては発症者の排菌状態や接触状況等を総合的に判断し化学予防適応を決める必要があり、定期的な経過観察が必要と考えられた。

E. 結論

小児における結核発症例では塗沫陰性例が多いため結核診断のQFTの有用性は高い。また結核潜伏感染の診断に際してQFT陽性例はC T等の画像診断を用いて発症の有無を正確に診断し治療か化学予防かの判断を行う必要がある。Q F T陰性例に於いてはBCG接種歴や年齢、接触歴等の症例背景も考慮した慎重な化学予防の判断と経過観察が必要と考える。

F. 健康危険情報

QFTは試験管内検査の為対象患者さんには特に問題ない

G. 研究発表

1. 論文発表

日本小児感染症学会誌投稿中

2. 学会発表

1. 徳永 修、藤本 舟、宮野前健

原田登之：小児結核診療におけるQuantiFERON RTB-2G測定結果に関する検討. 第39回日本小児呼吸器疾患学会（2006年）

2. 徳永 修、藤本 舟、宮野前健：

当院で診療した小児結核症例15例の検討—小児結核の予防、発症阻止、早期診断に向けて—. 第38回日本小児感染症学会（2006年）

3. 徳永 修、藤本 舟、宮野前健：

学童・生徒に発症した塗沫陽性肺結核の3症例. 第19回近畿小児科学会地方会（2006年）

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

体腔液QFTを用いた結核性漿膜炎の診断に関する研究

分担研究者 倉島篤行 独立行政法人国立病院機構東京病院 臨床研究部長

研究要旨

結核性胸膜炎は胸膜腔での結核菌に対する遅延型過敏反応が本質的な病態として把握されているが、臨床での確定診断では、結核菌が確認されることは培養では約25%、核酸増幅でも約65%以下であり各種の補助診断法が用いられている。

今回我々が検討した方法は胸水中の単核球を結核菌特異抗原刺激下で培養、遊離されるIFN- γ をELISAで測定する方法であり、病態に即した本質的な診断法と言える。確定診断された活動性結核胸膜炎胸水28例では非結核性胸水47例に比し、有意な結核特異抗原刺激IFN産生の亢進が見られた。また我々の行った胸水上清を培地mediumとして用いる方法は、結核既往歴のある非結核性胸水とも鑑別可能であり疑陽性のより少ない方法と考えられた。

A. 研究目的

活動性結核性胸膜炎の確定診断は、胸水または胸膜生検組織からの結核菌の同定によるが、その感度は低く、他の原因による胸水貯留疾患との鑑別が問題となる。活動性結核性胸膜炎は、胸腔内病巣において結核菌抗原に対する特異的細胞性獲得免疫応答が成立している。結核性胸膜炎患者の胸水から得られた細胞を、in vitroで結核菌特異的抗原 early secretory antigenic target 6 (ESAT-6)、culture filtrate protein-10 (CFP-10) により刺激、Interferon- γ (IFN- γ) 応答を測定した。

今年度さらに腹水、心嚢液の検討を行った。

B. 研究方法

胸腔穿刺または胸腔、腹腔鏡検査を施行し、確定診断が得られた体腔液貯留患者75名について検討した。結核菌が同定された活動性結核性例28名、非結核性体腔液貯留例47名。

方法 体腔液細胞を、陰性、陽性コントロール、抗原 (ESAT-6またはCFP-10) とともに体腔液上清を用いて培養後、上清中のIFN- γ を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究については平成16年11月19日の第7回国立病院機構東京病院倫理審査委員会にて承認を受けた。また研究の発表においては全て個人情報は匿名可して発表を行った。

C. 研究結果

陰性コントロールに比べESAT-6、CFP-10刺激した場合のIFN- γ は、結核性体腔液貯留群において有意に上昇していた ($p=0.0018$) が、非結核性体腔液貯留では有意な上昇は認めなかった ($p=0.88$)。陰性コントロールのIFN- γ は、非結核性体腔液貯留群に比べ、結核性体腔液貯留群において有意に高値を示した ($p<0.0001$)。非結核性体腔液貯留の一部の症例において、陰性コントロールのIFN- γ は比較的高値を示した。このような症例では特異抗原で刺激した場合、IFN- γ は上昇しなかった。結論 活動性結核性体腔液貯留では陰性コントロールのIFN- γ が高く、抗原刺激でさらIFN- γ が上昇する。一方、非結核性体腔液貯留では陰性コントロールのIFN- γ が低くても、比較的高値であっても、陰性コントロールに比べ抗原刺激でIFN- γ は有意に上昇しない。このようなパターンを解析することより活動性結核性体腔液貯留に特異的な診断が可能であると考えられた。

D. 考察

今回の研究により、活動性結核性体腔液貯留とその他の非結核性胸水貯留疾患における結核菌特異抗原に対するIFN- γ 産生応答は、まったく異なるパターンを示すことが明らかとなり、新たな鑑別診断法としての可能性が示唆された。

以前より、活動性結核性胸膜炎において、胸水上清中のIFN- γ は高値を示すとの報告がある。しかし、悪性疾患による胸膜炎などの非結核性疾患における胸水においても高値を示す場合があることも指摘されている。今回の検討において、陰性コントロール (胸水上清を培地として胸水中の細胞をCO₂インキュベーターで18時間培

養した上清中)のIFN- γ は、非結核性体腔液貯留に比べ、活動性結核性体腔液貯留で有意に高値を示した。しかし、非結核性体腔液貯留の一部の症例 (癌性胸膜炎)において胸水IFN- γ 濃度が活動性結核性胸膜炎と同程度に高値を示した。つまり、従来の胸水上清IFN- γ 濃度測定のみによる診断では、このような偽陽性となる症例を除外することが困難であると考えられる。

細菌学的確証が得られた活動性結核性体腔液貯留の患者28例の体腔液検体中の細胞をin vitroで結核菌特異的抗原 (ESAT-6/CFP-10) とともに培養すると、すべての症例で、陰性コントロールに比べ、IFN- γ 産生が有意に増強した。体腔内に集積した結核菌抗原特異的T細胞がin vitroでの抗原刺激により特異的に反応し、IFN- γ を産生した結果であると考えられる。活動性結核性胸膜炎が臨床的に強く疑われた症例26例 (喀痰より結核菌が証明された肺結核症に合併した胸水貯留患者、胸水から結核菌が証明されなかったが、抗結核薬による治療により胸水が消退した症例)においても全く同様の結果であった (データ非記載)。よって、活動性結核性胸膜炎では、陰性コントロールIFN- γ が1 (IU/ml)以上と比較的高値を示し、さらに特異抗原刺激でIFN- γ が有意に上昇するのが特徴的である。結核性腹膜炎、結核性心膜炎でも同様な結果であった。

一方、非結核性体腔液貯留患者群47例では、陰性コントロールに比べ、結核菌特異的抗原で刺激した場合、IFN- γ は統計学的に有意に上昇しなかった。陰性コントロールのIFN- γ が1 (IU/ml)以上の比較的高値であった非結核性胸水症例においてもIFN- γ は上昇しなかった。非結核性体腔液貯留では総じて陰性コントロールIFN- γ が1 (IU/ml)未満と低値であり、特異抗原刺激

でIFN- γ が上昇しないのが特徴である。これは、陰性コントロールIFN- γ 値が活動性結核性体腔液貯留と同程度に高値の少数の非結核性体腔液貯留症例でも同様である。

肺結核の既往のある非結核性胸水患者で、陰性コントロールと比較し、特異抗原刺激にてIFN- γ が上昇する症例を認めた。結核既往患者が他の原因により胸水貯留を来たした場合、末梢血中の結核菌抗原特異的T細胞が胸水中にも出現し、*in vitro*での抗原刺激でIFN- γ を産生する機序が推測される。特異抗原刺激でのIFN- γ から陰性コントロールのIFN- γ を差し引いた値のみによって評価するのは、結核既感染者に合併した他の胸水貯留疾患においても、“陽性”となってしまう可能性がある。結核性胸膜炎の活動性を反映し、陰性コントロールにおけるIFN- γ が高値となると考えられる。このような場合、陰性コントロールが低値であることにより、活動性結核性胸膜炎と鑑別できると考えられる。

また、胸水中の結核菌量が極めて多い場合、分泌蛋白であるESAT-6/CFP-10の胸水中濃度も高くなると推測される。そのような場合は*in vitro*でESAT-6/CFP-10を刺激抗原として加えてもIFN- γ 産生が増強しない可能性が予想される。また、胸水中のIFN- γ がすでに非常に高いため、特異抗原を加えても測定限界以上であり、IFN- γ 産生増強が測定できない場合があり得る。そのような場合、胸水上清を他の培地で希釈して培養を行うなどの方法が必要である。

末梢血を用いた全血によるassay法は、活動性結核性胸膜炎の診断にも有用であると考えられるが、患者の全身状態、免疫状態や、潜在性感染や結核既往の影響を受ける。今回の報告の対象患者において、末

梢血を用いた全血による同様のassayを行うと、活動性結核性胸膜炎患者のうち2名が“陰性”であり、非結核性胸水患者のうち“陽性”が2名存在した。今回の診断法は、胸腔内炎症局所に集積したESAT-6/CFP-10反応性T細胞の存在を証明することに他ならず、末梢血を用いた方法以上に特異的な診断法であると考えられる。活動性結核性胸膜炎のみならず、一定の体腔液検体が得られれば、腹腔内、心膜腔に結核性病巣を形成し、浸出液が貯留する活動性の結核性腹膜炎、結核性心膜炎の診断にも応用できる可能性が考えられる。

E. 結語

結核菌特異的蛋白抗原刺激による体腔液中細胞のIFN- γ 産生応答を測定することにより、活動性結核性体腔液貯留例を特異的かつ比較的簡便に診断する方法を報告した。結核性胸膜炎が臨床的に強く疑われるが、細菌学的確証が得られない症例における非侵襲的補助的診断法として臨床的に有用であると考えられる。

F. 健康危険情報

特記なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Novel diagnosis of active tuberculous pleuritis ; Interferon- γ -based assay using M. tuberculosis specific antigen として投稿中.

2. 齋藤朗, 長山直弘, 八木理充, 大島信治, 田村厚久, 永井英明, 赤川志のぶ, 川辺芳子, 町田和子, 倉島篤行, 四元秀毅:肝硬変に合併した結核症例の検討.

結核 2006 Jul;81(7):457-65

3. 倉島篤行: 肺結核とアスペルギルス症. 最新医学・別冊 新しい診断と治療の ABC 41, 呼吸器 6 結核・非結核性抗酸菌症. 大阪市 最新医学社 227-238, 2006.
4. 倉島篤行: 高齢者の抗酸菌感染症. 日本臨床 65:490-494, 2007
5. 倉島篤行: 非侵襲性肺アスペルギルス症治療の新たな展開. 結核 82:143-147, 2007.
6. 倉島篤行: 非結核性抗酸菌症. Modern Physician 2006 Mar;26 (3):385-8

2. 学会発表

1. 有賀晴之, 川辺芳子, 永井英明, 倉島篤行, 鈴木純子, 益田公彦, 松井弘稔, 田村厚久, 長山直弘, 赤川志のぶ, 町田和子, 蛇沢晶, 四元秀毅: 活動性結核性胸膜炎の新しい特異的診断法 Pleural fluid cell-QuantiFERON TB 2G(FC-QFT). 第46回日本呼吸器学会総会, 東京, 2006.

以下特記なし

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

結核の感受性・重症度と遺伝子多型

QuantiFERONの有用性－原発性免疫不全症における経験－

分担研究者 原 寿郎 九州大学・大学院医・成長発達医学

研究要旨

これまで当施設では21の結核感受性候補遺伝子について118個のマーカ―塩基多型(SNP)を用いたスクリーニングを行い、L12RB1 (IL-12 receptor β 1遺伝子)とIL1B (IL-1 β 遺伝子)のSNPが結核の発症と関連していることを報告した。今年度は、これらのSNPと結核の重症度との関連を検討した。結核患者87名をX線所見の国際分類にしたがってminimal、moderately advanced、far advancedの3群に分け、対照群とminimal群および対照群とadvanced群 (moderately+far) の間でL12RB1の3つのcSNP (641A/G, 1094C/G, 1132C/G) とIL1Bのマーカ―SNP (rs3917638)の各genotypeおよびalleleの頻度を比較した。その結果、対照群とadvanced群との間で、より著明なgenotypeおよびalleleの頻度の差がみられた。この結果は、この2つの遺伝子が結核の重症度とも関連していることを示唆している。BCGリンパ節炎をきたした23歳慢性肉芽腫症 (IFN- γ 産生が正常な原発性免疫不全症) 症例の検討では、結核か否かの診断にQuantiFERONが有用であった。

A. 研究目的

(年齢 : 52.7 \pm 21.1歳)

1. 結核の感受性・重症度と遺伝子多型

対照群 :

日本人において結核の感受性・重症度に関与している宿主遺伝要因を明らかにする。

健康成人265名

(年齢 : 56.5 \pm 12.7歳)

2. QuantiFERONの有用性－原発性免疫不全症における経験－

原発性免疫不全症患者において、結核か否かの診断にQuantiFERONが有用であるか検討する。

2) 方法

これまで当施設では21の結核感受性候補遺伝子について118個のマーカ―塩基多型(SNP)を用いたスクリーニングを行い、IL-12 receptor β 1遺伝子(IL12RB1)とIL-1 β 遺伝子(IL1B)のSNPが結核の発症と関連しているこ

B. 研究方法

1. 結核の感受性・重症度と遺伝子多型

とを報告した。今年度は、これらのSNPと結核の重症度との関連を検討した。結核患者87名をX線所見の国際分類 (International Classification of

1) 対象

結核患者群 :

肺結核患者87名

Tuberculosis ; Falk et al. 1969) にしたがってminimal、moderately advanced、far advancedの3群に分け、対照群とminimal群および対照群とadvanced群 (moderately+far) の間でL12RB1の3つのcSNP (641A/G, 1094C/G, 1132C/G) とIL1BのマーカーSNP (rs3917638)の各genotypeおよびalleleの頻度を比較した。遺伝子型の決定は、すべてPCR産物のdirect sequencingにより行なった。統計解析は2×2表を用いた χ^2 検定を用いP<0.05を有意差ありとした。

(倫理面への配慮)

本研究における遺伝子解析は患者あるいは保護者の文書による同意を得て行い、また、九州大学遺伝子解析倫理委員会の承認を受けている。

2. QuantiFERONの有用性 - 原発性免疫不全症における経験 -

慢性肉芽腫症の23歳男性が腋窩、頸部リンパ節腫大をきたし入院した。慢性肉芽腫症は抗酸菌に易感染性があるため、結核性リンパ節炎を鑑別する必要があった。そこでリンパ節生検を施行し、生検検体の結核菌特異的PCR、抗酸菌培養を行った。このとき同時にQuantiFERON検査を施行し、前述の検査結果と一致するかどうか検討した。

C. 研究結果

1. 結核の感受性・重症度と遺伝子多型

結核患者群は、minimal : 34名、moderately advanced : 38名、far advanced : 15名に分類された。表1に結核患者を群分けしなかった場合、表2にminimal群および対照群とadvanced群 (moderately+far) に分けた場合のL12RB1の641A/Gおよび1094T/C (1132C/G)多型のgenotype 頻度とallele 頻度をそれぞれ示した。advanced 群では、641A/G多型のGG genotype (P = 0.0028) およびG allele

(P = 0.003), 094T/C または1132C/G多型のCC genotype (P = 0.00068)およびC allele (P = 0.00088) の対照群との頻度の差が、群分けしない場合に比較してより顕著にみられた。表3にIL1Bのrs3917368多型で同様の解析を行なった結果を示したが、advanced 群ではGG genotype (P = 0.0017)の対照群との頻度の差が、群分けしない場合(P = 0.006)に比較してより顕著にみられた。

2. QuantiFERONの有用性 - 原発性免疫不全症における経験 -

慢性肉芽腫症症例のQuantiFERON

(QFT)検査結果は陰性であった。一方、リンパ節生検検体の結核菌特異的PCRの結果は陽性であった。リンパ節の抗酸菌培養で菌の増殖が認められたため、分離菌について解析を行った結果、結核菌ではなくBCG菌であると判明した。なお、本症例のリンパ節炎は、乳児期に施行されたBCGが原因であると推定された。

小児におけるQFTの使用成績に関する報告を検索した結果を以下に示す。

1) 森ほか(感染症誌, 2005)

・画像所見がある結核症例 (5m, 10m, 8y, 9y, 14y) のQFT陽性率 : 100% (5/5)

・接触者検診またはツベルクリン自然陽転例の結核発症率

画像所見/症状がないQFT陽性症例 (1~6歳、INH予防あり) : 33% (1/3)

QFT陰性症例 (1~16歳、8例にBCG歴、INH予防なし) : 0% (0/10)

・MAC感染症 (13歳) : QFT陰性

2) Connell TG et al. (Thorax, 2006) (オーストラリア)

・結核症例 (median 3.9 [1.2y-17.1y]) のQFT

陽性率 : 100% (9/9)

・結核未感染者 (ツ反陰性, median 6.8

[0.4y-16.9y]) のQFT陽性率 :
0% (0/38)

- 3) 新妻ほか (小児感染症学会, 2006)
・接触者検診でのQFT陰性例 (3~7歳、6
例にBCG歴、INH予防なし)
結核発症率: 0% (0/7)

- 4) 小澤ほか (小児感染症学会, 2006) [1]
の症例を含む]
・結核外来検診と生物学的製剤の導入前
評価

結核症例のQFT陽性率(感度):
100% : (12/12)

非結核症例のQFT陰性率(特異度):
81.0% (31/38)

D. 考察

1. 結核の感受性・重症度と遺伝子多型
今回の検討で、L12RB1の641A/Gおよび1094T/C (1132C/G)多型とIL1Bのrs3917638多型が結核の重症度と関連していることが示された。これまで、結核の重症度がHLA Class II 抗原、SLC11A1 遺伝子と関連していることが報告されているが (Brahmajothi et al., 1991; Rajalingam et al., 1996; Kim et al., 2005; Zhang et al., 2005)、L12RB1との関連が示されたのは初めてである。L12RB1の3つのcSNPについては、これらで形成される特定のハプロタイプをホモで有する健康人のCD2+リンパ球のIL-12 応答性が低いことが報告されており (Akahoshi et al. 2003)、このことが結核の重症化と関連している可能性が考えられる。一方、rs3917638はIL1Bの3' downstreamに位置しており各genotypeの機能的差異は不明であるが、遺伝子発現やスプライシングの制御や機能的SNPとの連鎖不平衡を介して、結核の重症度に影響を及ぼしている可能性が考えられる。
2. QuantiFERONの有用性 - 原発性免疫不全症における経験 -

原発性免疫不全症においては抗酸菌に易感染性がある。今回、乳児期に施行されたBCGが成人期のリンパ節炎の起炎菌となりうることが判明した。従来からの迅速検査であるPCRではBCG菌と結核菌の区別は不可能であるが、今回施行したQFTでは両者を正確に区別できることがわかった。このように結核か否かの診断QFTは有用であることが証明された。

E. 結論

L12RB1の3つのcSNP (641A/G, 1094C/G, 1132C/G) とIL1BのマーカーSNP (rs3917638)は、結核感受性のみでなく、結核の重症度とも関連していることが示唆される。BCGリンパ節炎をきたした慢性肉芽腫症症例の検討では、結核か否かの診断にQuantiFERONが有用であった。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表
1. Khajooe V, Saito M, Takada H, Nomura A, Kusuhara K, Yoshida SI, Yoshikai Y, Hara T: Novel roles of osteopontin and CXC chemokine ligand 7 in the defence against mycobacterial infection. Clin Exp Immunol 143 (2):260-8, 2006.
 2. Kusuhara K, Yamamoto K, Okada K, Mizuno Y, Hara T: Association of IL12RB1 polymorphisms with susceptibility to and severity of tuberculosis in Japanese: a gene-based association analysis of 21 candidate genes. Int J Immunogenet 34:35-44, 2007.